Aus der
Universitäts-Kinder-Poliklinik in München
Vorstand: Geheimrat Professor Dr. SEITZ.

Das Blutbild bei experimenteller Rattenrachitis

Auszug aus der

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde
in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer hohen medizinischen Fakultät der
Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München
vorgelegt von

GEORGI MUSTAKOFF
aus Silistra (Bulgarien)

München 1926

Gedruckt mit Genehmigung der
medizinischen Fakultät der Universität München
Referent: Prof. Dr. Karl Seitz

Seitdem es Mc Collum und seinen Mitarbeitern gelang, durch besondere Fütterungsdiäten an wachsenden Ratten, mit Regelmäßigkeit eine Skeletterkrankung nach Art der kindlichen Rachitis zu erzeugen, haben viele Forscher ihre Versuche einer Nachprüfung unterzogen und sie erweitert. Es hat sich gezeigt, daß die verschiedenen Rattenrassen sich verschieden verhalten, daß manche Stämme, besonders die dunklen, erhöhte Resistenz gegenüber der Krankheit zeigen, zum Teil sogar überhaupt nicht erkranken und daß am leichtesten die albinotischen Tiere, bei welchen man auch spontane Rachitis beobachtet hat (Korenchevsky), der Erkrankung anheimfallen. Man ist zu der Annahme gekommen, daß außer den zweifellos in den Ernährungsarten gelegenen Momenten, für das Zustandekommen der Erkrankung auch innere Momente, die in ihrem Wesen noch wenig bekannte Disposition zur Rachitis, maßgebend ist. Von Bedeutung ist auch das Alter, in welchem die Tiere zum Versuche angesetzt werden.

Nach Mc Collum ist das Wesentliche seiner empirisch gefundenen rachitis-erzeugenden Kostarten in der Diskorrelation des Kalcium- und Phosphorgehaltes gelegen. Diese Annahme knüpfte er an die Beobachtungen Howlands und Kramers, welche bei der Blutanalyse rachitischer Kinder niederen Phosphorgehalt, aber fast normalen Kalciumgehalt und in anderen, besonders mit Tetanie einhergehenden Fällen aber auch ein entgegengesetztes Verhältnis zwischen Kalcium und Phosphor fanden. Als Optimum für das Gedeihen wachsender Ratten fand Mc Collum in seinen Versuchen ein Verhältnis von Ca : P wie 1 : 0,6; indem er

sich von diesem optimalen Verhältnis entfernte, kam er zu Kostformen, die rachitische Skelettveränderungen hervorriefen. Ferner gibt Mc Collum an, daß in der Wirksamkeit seiner Nahrung das Fehlen eines antirachitischen Heilfaktors von ausschlaggebender Bedeutung sein soll; den Anlaß zu dieser Feststellung gaben Versuche von Kasimir Funk, der bei der Prüfung einer ähnlichen Kostart mit Ca- Überangebot und P- Unterangebot, die aber in ihrer Zusammensetzung anders war wie die von Mc Collum verwendete, keine krankhaften Veränderungen an seinen Tieren fand; er zog daraus den Schluß, daß in den von Mc Collum empirisch gefundenen rachitis-erzeugenden Kostarten etwas fehlen müsse, was eben jenen antirachitischen Heilfaktor (Vitamin) ausmachen soll. — Die best erprobte „Kostart 3143" von Mc Collum besteht aus 33% Mais, 33% Weizen, 15% Weizenkleber, 15% Gelatine, 3% $CaCO_3$ und 1% NaCl; sie ist kalorisch vollwertig; eigentliche Wachstumsvitamine hat sie wenig, jedoch hinreichend um Wachstum zu erzeugen und ein Auftreten von Vitaminkrankheiten mit Sicherheit zu verhüten. Ihr Ca-Gehalt beträgt 1·221 gr., ihr P-Gehalt 0·3019 gr. in 100 gr. Substanz, gegenüber einem Optimum von 0·64 gr. Ca und 0·4 gr. P; sie enthält also etwa doppelt soviel Ca als notwendig, ihr P-Gehalt macht $^3/_4$ des Wachstumsbedarfes aus. Bei ihr wird der rachitisheilende Faktor vermißt. — Die Krankheit wird nach Angaben des Autors durch die Diskorrelation des Ca- und P-Gehaltes, sowie durch das Fehlen des antirachitischen Faktors (E-Vitamins) in der Nahrung erzeugt.

In grundsätzlich gleicher Weise, aber mit anderen Nahrungsgemischen, sind auch andere Forscher wie Pappenheimer, Sherman, McCann an die experimentelle Erzeugung von Rachitis an Ratten herangetreten. Aber wie von manchen berichtet wird, er-

wiesen sich ihre Kostproben wegen der einseitig kohlehydratreichen Diät als ungeeignet, um bei den Versuchstieren ein zur rachitischen Erkrankung grundsätzlich notwendiges Wachstum zu erzielen.

Die mit der genannten Kost von Mc Collum gefütterten Ratten erkranken bei gleichzeitiger Zufuhr von Lebertran nicht; demzufolge übt Lebertran einen spezifischen Einfluß auf die Rattenrachitis aus und zwar kann man die Kalkablagerung nach etwa 2—8 Tagen in den Knochen röntgenologisch nachweisen. Auch ist der Einfluß anderer Öle ausprobiert worden; man fand, daß nach Lebertran den besten Erfolg auf die Rattenrachitis das Haifischöl, das Nelkenöl, sowie 15–30% Butter in der Nahrung zeigen; fast gar keinen Erfolg sah man bei Olivenöl und den meisten anderen Pflanzenölen; dagegen ist von Maurer sehr günstiger Einfluß durch mit der Quarzlampe bestrahltes Sesamöl beobachtet worden. Auch die Wirkung der verschiedenen Strahlen ist untersucht worden mit dem Ergebnis, daß die Höhensonnenbestrahlungen auf die Rattenrachitis einen günstigen Einfluß ausüben, der aber hinter dem des Lebertrans zurücksteht; viel weniger Wirkung haben das Sonnenlicht und die gewöhnliche Bogenlampe und fast gar keinen die Röntgenstrahlen (Hess, Unger; Maurer). Phosphordarreichung allein hat keinen Einfluß auf die Krankheit. — Die experimentelle Rattenrachitis läßt sich also ungefähr durch dieselben Mittel beeinflussen, welche man auch bei der kindlichen Rachitis mit Erfolg anwendet. Zugabe von 2—3% Lebertran zur Rachitiskost vermag die Entstehung der Krankheit bei der Versuchsratte mit Sicherheit zu verhüten; tägliche Bestrahlungen mit der Quarzlampe verhindert ebenso ihre Entstehung, — in diesem Punkte hat man eines der stärksten Argumente für die nahe Verwandtschaft beider Krankheiten.

Früher hat man sich die günstige Wirkung des Lebertrans auf die kindliche Rachitis dadurch zu erklären versucht, daß er die Rückausscheidung der Kalksalze in dem Enddarm begegne (Schloß) oder daß er durch seine Oxygruppen gewissermaßen als Kalkfänger im Organismus wirke (Freudenberg). — Jetzt wird sein Einfluß viel besser durch die Annahme und das Wirken von Vitaminen verständlich gemacht. Er ist das vitaminreichste Nahrungsmittel und sehr kleine Mengen seiner Fraktionsprodukte sind stets wirksam. — Viele Beobachtungen haben zu der Annahme geführt, daß in dem ungereinigten Lebertran zwei Arten von Vitaminen enthalten seien: ein wachstumsförderndes Vitamin A und ein spezifisch-antirachitisches Vitamin E, welch letzteres durch Zerstörung des A-Vitamins (Erhitzen des Lebertrans auf 100° unter gleichzeitigem Durchleiten von Sauerstoff) in aktiver Form erhalten werden kann (Mc Collum); die beiden Vitamine auf chemischem Wege zu trennen und getrennt in aktiver Form zu erhalten ist bis jetzt noch nicht gelungen. — Man kann sie von den übrigen Bestandteilen des Lebertrans isolieren, indem sie in dem unverseifbaren Anteile zurückbleiben, wo sie durch Ausschütteln mit organischen Lösungsmitteln in konzentrierter Form gewonnen werden können (Mc Collum); auf dieser Beobachtung beruhen die meisten modernen Fraktionierungsmethoden. Das antirachitische Vitamin (E) ist bis jetzt nur im Lebertran, Haifischöl, Nelkenöl und in der alkoholischen Butterfettfraktion gefunden; ausgedehnte und sorgfältige Versuche ergaben sein Fehlen in den anderen Ölen.

Neben diesen souveränen Mitteln hat die exper. Rachitisforschung noch viele andere anzuwenden versucht. So beobachtete Shipley eine rasche Heilung

seiner rachitiskranken Ratten, als er sie bei Wasserzufuhr hungern ließ; Hess versuchte dies mit einer starken Verminderung des P-Bedarfes bei Wachstumsstillstand im Hunger zu erklären. Frauenmilch übt keine bessernde Wirkung auf die experimentelle Rattenrachitis aus. Bosany berichtet über starke antirachitische Wirksamkeit des Knochenmarks gesunder Tiere auf die exper. Rattenrachitis; das Knochenmark rachitisch kranker Tiere sei unwirksam. — Die rachitiskranken Ratten zeigen herabgesetzte Resistenz gegenüber den verschiedenen Infektionserregern; sie erkranken stets sehr leicht, besonders an Pneumonie und Räude. Die Normaltiere sowie die mit den verschiedenen Antirachitica behandelten kranken Tiere sind erheblich resistenter.

Die Tierexperimente zeigen somit, daß in der Tat unter Verabreichung der vorgenannten Kostformen an wachsenden Ratten ein Krankheitsbild sich erzeugen läßt, welches große Ähnlichkeit mit der kindlichen Rachitis aufweist; die wesentlichsten Antirachitica (Lebertran, Höhensonne) vermögen sie ebenso und in dem Maße zu beeinflussen, wie dies der Fall mit der menschlichen Rachitis ist. Freilich läßt sich aus diesen Versuchen die Genese der kindl. Rachitis noch nicht erklären, aber den Gedanken an einen kausalen Zusammenhang zwischen Rachitis und Vitamin - E - Mangel kann man zum mindesten nicht ablehnen. Nach Lang spielen sowohl bei der menschlichen wie bei der tierexperimentellen Rachitis komplexere Bedingungen als eine Vitaminarmut der Nahrung allein eine ursächliche Rolle. Wir wissen, daß bei der menschlichen Rachitis wesentliche Veränderungen im Stoffwechsel des Organismus, besonders in Bezug auf seinen Phosphor- und Kalkgehalt vorliegen, welche als Ursachen für die Wachs-

tumsstörungen in Betracht kommen. Diese Stoffwechselveränderungen sind stets in konstitutionell-vererbbarer Bereitschaft bedingt, aber für ihr Zustandekommen sind auch äußere Momente notwendig, — letztere können in ihrer Art vielseitig sein, können auf Ernährungsschäden, unhygien. Lebensverhältnissen usw., wohl aber auch auf Vitamin-E-Mangel beruhen.

Im Folgenden wollen wir die von Dr. Maurer geleiteten Versuche behandeln, welche den Zweck hatten nachzuweisen, ob der bereits sicher erwiesenen Erkrankung des Knochensystems bei der experimentellen Rattenrachitis auch Erkrankungen anderer Organsysteme — ebenso wie bei der menschlichen Rachitis — entsprechen. In unserem Falle wurde das Blutbild normaler, rachitischer und mit Lebertran geheilter Ratten einer Prüfung unterzogen. — Die Tiere wurden in der IV. Lebenswoche zum Versuch angesetzt, wo sie sich in vollem Wachstum befinden und unabhängig von der Mutter ihre Nahrung aufnehmen. Damit etwa Rassendifferenzen ausgeschaltet werden, hatten wir die Normaltiere sowie die mit Lebertran behandelten immer vom selben Wurf gewählt, wie die zur Erkrankung bestimmten. Um bei den einzelnen Tieren die Krankheit zu verhüten, wurde der Lebertran vom ersten Versuchstage an der Rachitiskost (Mc Collum Nr. 3143) beigefügt. — Die Blutbilduntersuchungen nahmen wir so vor, daß wir von dem abgekappten Schwanze der Ratte mit einem sorgfältig gereinigten Objektträger einen Tropfen Blut entnahmen und ihn mit Hilfe eines Deckgläschens ausstrichen; das so angefertigte Präparat färbten wir nach Lufttrocknung nach der Pappenheim'schen Methode.

Das normale Blutbild der jungen Ratten besteht durchschnittlich aus 76% Lymphocyten (davon ca. 3,5% große Lymphocyten), 20% neutrophile Leukocyten, 1–3%

eosinophile Leukocyten, 1—3% große mononukleäre Zellen und 0·2—0·5% Übergangsformen. Basophile Leukocyten trifft man sehr selten; Normoblasten, Myelocyten und Myeloblasten kommen normalerweise nie vor, dagegen in den ersten 3—4 Wochen hie und da polychromatische Erythrocyten. Oft sieht man neutrophile Leukocyten mit einem ringförmigen Kern, welche als nicht vollständig gereifte Formen gelten dürfen. Die Zahl der Erythrocyten beträgt ca. 6·5 bis 7·2 Millionen, die der weißen Blutkörperchen 8,000 bis 12,000 im cmm.

Die kindliche Rachitis ist bekanntlich sehr oft mit einer mäßigen Anämie verbunden. Wo eine ausgesprochene Anämie mit gleichzeitigem Auftreten jugendlicher Formen im Blutbilde und eines Milztumors vorliegt, handelt es sich um Anämia pseudoleucämica infantum. Die starken Anämien ohne jugendliche Blutformen sind für gewöhnlich sekundäre, zumal die Rachitis zu vielen anderen Erkrankungen disponiert. — Die Lymphocyten sind meist absolut vermehrt.

Die auf Rachitiskost gesetzten Tiere zeigten regelmäßig von der 3. — 4. Versuchswoche an Normoblasten in ihrem Blutbild; von der 5. — 6. Woche an tauchten auch Myelocyten auf. Die Zahl der Normoblasten nahm bis zur 7. — 8. Woche zu, dann fiel sie allmählich ab und in der 10. Woche waren sie nicht mehr zu sehen. Hand in Hand damit ging auch eine Vermehrung der polychromatischen Erythrocyten. Das übrige Blutbild bot, außer einer geringen Mononukleose, keine wesentlichen Änderungen. Der Höhepunkt des Auftretens von pathologischen Blutformen fiel dabei zeitlich mit dem von Mc Collum berichteten Höhepunkt der Skelettveränderungen

zusammen. — Alle diese Erscheinungen waren im Blutbilde der normalgenährten und der mit Lebertran behandelten Tiere nicht zu sehen. Wie ist diese Ausschwemmung von unreifen Formen im Blutbilde der rachitischen Tiere zu deuten? — Ihr regelmäßiges Auftreten und Verschwinden, ihr zeitliches Zusammenfallen mit dem Höhepunkt der Skelettveränderungen und das Freibleiben der normalen und der mit Lebertran behandelten Tiere zeigen, daß sie im Zusammenhang mit der rachitischen Erkrankung steht und nicht durch intercurrente Ursachen bedingt ist. Offenbar handelt es sich um eine Reizung der blutbildenden Organe im Verlaufe der experimentell-erzeugten Rachitis, da diese bekanntlich bei jungen Tieren sehr leicht und intensiv auf verschiedenartige Reize ansprechen (nach Nägeli). Da dieses Auftreten jugendlicher Blutformen von der 4. bis 9. Woche eine regelmäßige und konstante Begleiterscheinung der experimentell-erzeugten Rattenrachitis ist, kann man sie als Symptom verwerten und durch sie auch Aufschluß über die Wirkung der angewandten Antirachitica bekommen. Sie zeigt, daß der Lebertran die Krankheit sehr wesentlich im Sinne einer Heilung beeinflußt.